

NÖVÉNYI KROMOSZÓMÁK FESTÉSE AZOFEKETE SEGÍTSÉGÉVEL

VÁGÁS ENDRE

(Közlésre érkezett: 1972. október 16.)

A kromoszómák, a mitotikus sejtosztódás megfigyelése a sejtteni vizsgálatok lényeges része. Általában gyökércsúcsok kromoszómaíit szemléltetjük. Ennek oka az, hogy például a hagyma gyökércsúcsában található sejtek és kromoszómák viszonylag nagy méretűek és ezért a kromoszómák, valamint a sejtosztódás egyes stádiumai jól vizsgálhatók.

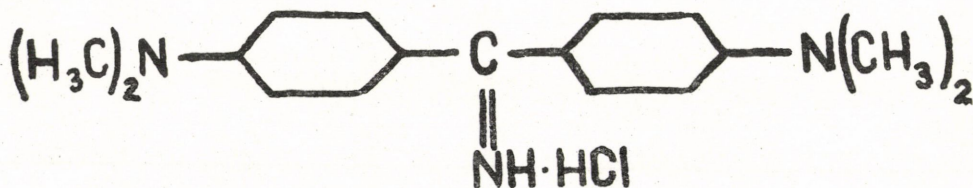
A vizsgálatokhoz szükséges mikroszkópi preparátumok jelentékeny része napjainkban is a mikrotechnika kezdeti idejéből származó (*Heidenhain*-féle vastimsós haematoxylin) festéssel készül. Újabban számos eljárás foglalkozik az ún. *dörzspreparátumok* előállításával (pl. az ecetsavas karmin módszer és változatai), melyek egyidejűleg teszik lehetővé a vizsgálati anyag megfestését és — metszés nélkül — vékony réteggé préselését. Sajnos, a régebbi módszerek nehézkesek; a dörzskészítmények előállítása pedig nem csekély gyakorlatot igényel, sőt a dörzspreparátumok megbízható állandósítása sem egyszerű feladat. Azzal is számolnunk kell, hogy a gyökércsúcsokban az osztódó sejtek aránya igen változó, véletlenszerű.

Munkánkat jelentékenyen egyszerűsíthetjük, ha a vöröshagyma csíráztatása során előbújó gyökereket az 5 milliméteres hosszúságuk elérése előtt *auramin*-oldattal kezeljük, azaz a csíráztatást 0,1—0,2%-os vizes auramin-oldatban folytatjuk. Az auramin-hatás ugyanis a sejtosztódás lefolyását elnyújtja, sőt a sejtosztódást — a sejtek jelentékeny részében — *metafázisban* (az egycsillag stádiumban) meg is állítja. Az auramin hatása bizonyos fokban hasonló a kolchicinéhez, az auramin azonban nem mérgező, és könnyen beszerezhető vegyület.

5—8 órás auramin-kezelés után — kb. 60—80 percre, esetleg hosszabb időre — ismét célszerű a csírázó hagymát vízbe helyezni, azaz az auramin hatását részben megszüntetni, hogy a kész preparátumokban lehetőleg valamennyi sejtosztódási stádium bőségesen képviselve legyen.

Az auramin felhasználásáról figyelembe kell vennünk, hogy — különösen oldatában — a 30 °C-ot meghaladó hőmérsékleten, néhány nap alatt elbomlik és hatását veszti. Ezért általában minden alkalommal új

oldat készítése szükséges. Az auramin color indexszáma: 41 000. Szerkezeti képlete:



A gyökércsúcsokat kb. 5 milliméteres hosszúságuk elérésekor célszerű lemetszeni és nyomban alkoholtartalmú *Bouin*-oldattal ajánlatos rögzíteni. A rögzítő kimosás után 0,5%-os vizes azofekete (Chlorazol black E; color indexszám: 30 235) oldatban a gyökércsúcsokat, legalább három napon át egészben (in toto) festjük. Az azofekete festése főként a kromatin-állományra korlátozódik; a sejtfalakat és a sejtplazmát csupán gyengébben, szürkés árnyalatban színezi. Túlfestés nem áll be; a festés eredménye nem differenciálható.

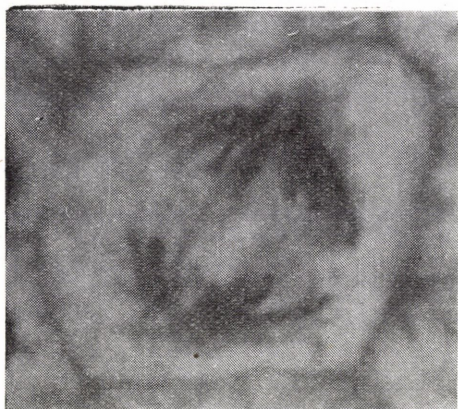
A festés befejeztével a gyökércsúcsokat rövid kimosás után, általában gyorsított módszerrel paraffinba ágyazzuk, majd 15—20 mikron vastagságú hosszmetseteket készítünk. A tárgylemezre ragasztott metsetek-



1. ábra
Gomolystadium

ből ezután, az állandósítás előtt, már csupán a paraffint kell — benzollal — kivonnunk. A festés eredménye hasonló a vastimsós haematoxylin festéséhez. Nincsen akadálya annak sem, hogy az ecetsavas karmin festő-módszerből ismert dörzspreparátumokat készítsünk, azonban ez a változat — a tapasztalatok szerint — szemléltetési célra, a metszetkészítésnél lényegesen hátrányosabb.

Az ajánlott módszer számottevő előnye, hogy a gyökércsúcsok bőségesen tartalmaznak mitózisalakokat. Könnyen megvalósítható eljárással készíthetünk a *Heidenhain-féle* módszerrel nagyjában egyenértékű készítményeket. Az auramin *karioklasztikus* hatását, a sejtosztódás lefolyásának viszonylag egyszerű irányítási lehetőségét az oktatásban — mint kísérletet — is felhasználhatjuk.



2. ábra
Diaszter- (kétcsillag-) fázis



3. ábra
A felvételen felül az anafázis befejező
helyzete; alatta monaszter (az egycsillag)
állapot látható

A felvételek a szerző preparátumairól készültek

IRODALOM

- ¹ Canon, H. G.: Stain Technology. 1943. 18, 189—192.
- ² Csanády, Gy., Vágás, E.: A Biológia Tanítása. 1962. 1, 78—82.
- ³ Gurr, E.: Encyclopaedia of microscopic stains. London, 1960.
- ⁴ Harms, H.: Handbuch der Farbstoffe für die Mikroskopie. 1965.
- ⁵ Mitra, J.: The Nucleus. 1965. 8, 179—182.
- ⁶ Tolbert, R. J.: Stain Technology. 1962. 37, 165—169.
- ⁷ Vadász János, Kontra György: Mikroszkóppal az élet nyomában. Budapest, 1957.

FÄRBUNG PFLANZLICHER CHROMOSOMEN MIT HILFE VON CHLORAZOLSCHWARZ

E. Vágás

Ein hochgeeignetes Verfahren zur Anreicherung der Kernteilungsfiguren in zu didaktischen Zwecken angefertigten Wurzelspitzenpräparaten ist eine mehr-minder lange Zeit fortgesetzte Keimung in 0,1—0,2-proz. wässriger Auraminlösung (C. I. No. 41 000). Die dem Kolchizineffekt nahestehende Wirkung des Auramins zieht nämlich den Vorgang der Zellteilung hinaus und bringt diese bei einem beträchtlichen Teil der Zellen — in der Metaphase sogar auch zum Stillstand.

Wesentlich vereinfacht wird die Herstellung der Präparate durch dreitägige Stückfärbung mit 0,5-proz. wässrigen Chlorazolschwarzlösung (C. I. No. 30 235) und anschliessende Paraffin-Schnelleinbettung. Das Resultat der Färbung ist im grossen und ganzen gleichwertig mit dem der sehr umständlichen Heidenhain'schen Eisenhämatoxylinfärbung.

Das überaus einfache Verfahren eignet sich auch als didaktischer Lehrversuch bezüglich der Lenkung des Ablaufes der Karyokinese.

Erklärung der Abbildungen

1. Spirem-Stadium (Prophase).
2. Anaphase (Dyaster-Stadium).
3. Oben im Bilde: Schlusszustand der Anaphase; darunter das Monaster-Stadium (Metaphase).

Die Aufnahmen wurden von den Präparaten des Verfassers angefertigt.